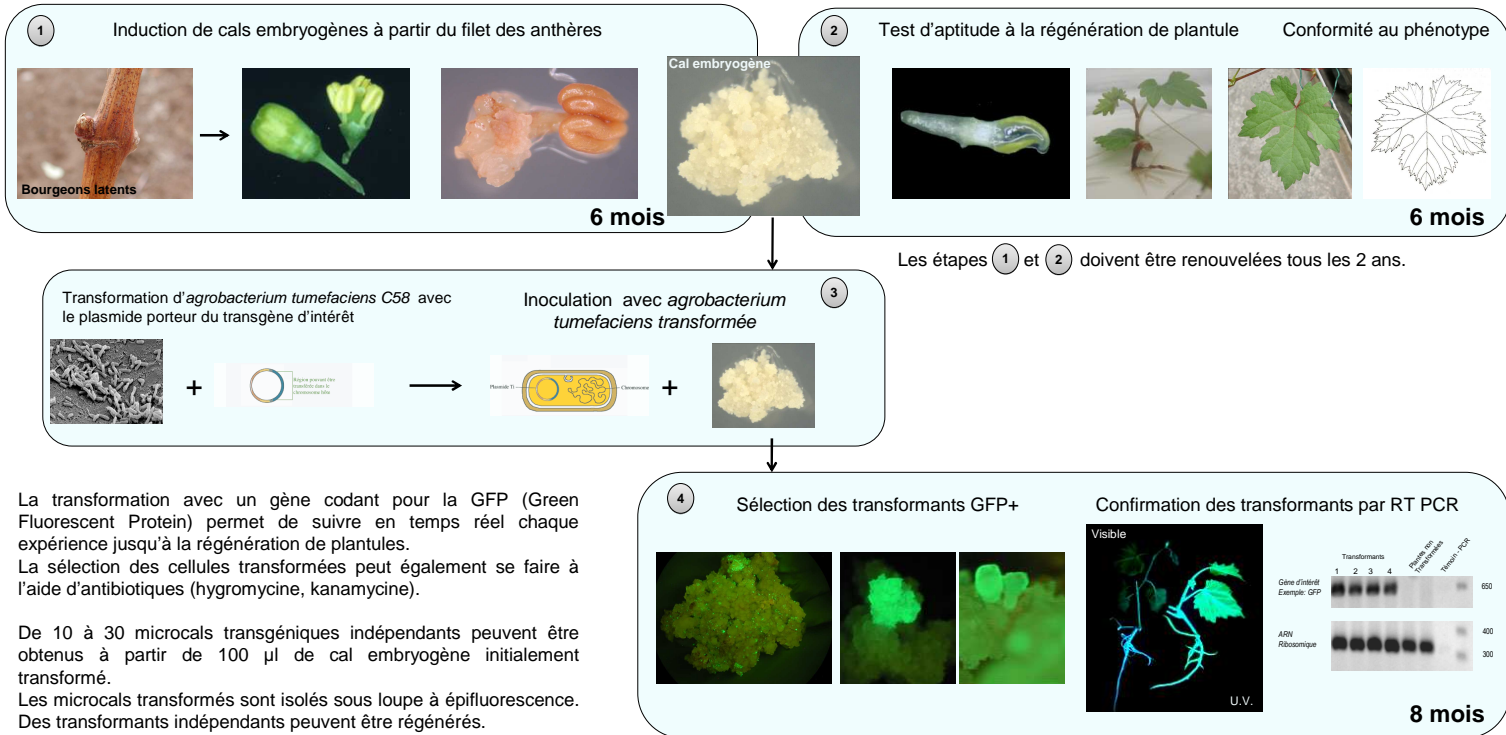


Mireille Perrin, Carine Schmitt, Claude Gertz, Isabelle Soustre-Gacougnolle*, Jean Masson
Virologie Vection UMR SVQV, INRA/UDS, 28 rue de Herrlisheim 68021 Colmar Cedex

* Laboratoire Vigne Biotechnologies et Environnement, EA-3991, Université de Haute-Alsace, UFR PEPS, 68008 Colmar cedex France
plateforme-transfovigne@colmar.inra.fr

Suite au séquençage du génome de la lignée de Pinot Noir 40024 (Jaillon *et al.*, 2007), une forte demande en analyse fonctionnelle chez la vigne a émergé. Une enquête réalisée auprès des différents acteurs (2008-2009) a permis d'estimer les besoins et de co-définir le mode de fonctionnement d'une plateforme de transformation de vigne attendu par les laboratoires. Elle fait appel à une méthode de transformation génétique/régénération de la vigne optimisée et adaptée à la lignée 40024. D'autres génotypes sont proposés tels que le Chardonnay et les porte-greffes Nemadex AB et 41B.

DESCRIPTIF



La transformation avec un gène codant pour la GFP (Green Fluorescent Protein) permet de suivre en temps réel chaque expérience jusqu'à la régénération de plantules. La sélection des cellules transformées peut également se faire à l'aide d'antibiotiques (hygromycine, kanamycine).

De 10 à 30 microcals transgéniques indépendants peuvent être obtenus à partir de 100 µl de cal embryogène initialement transformé. Les microcals transformés sont isolés sous loupe à épifluorescence. Des transformants indépendants peuvent être régénérés.

LES ENGAGEMENTS DU LABORATOIRE DEMANDEUR ET DE LA PLATEFORME

Pour le laboratoire demandeur

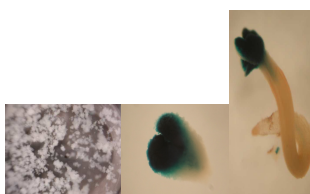
- Donner un bref résumé (250 mots) du projet scientifique qui restera confidentiel
- S'engager à réserver ce matériel végétal à des fins de recherche (c'est le cadre de la plateforme).
- Fournir l'ADN cloné dans un vecteur binaire sous forme de culot ADN ainsi que les amorces pertinentes pour l'analyse des transformants.
- Contribuer au frais de fonctionnement du projet
- Un membre de la plateforme co-auteur de la première publication en lien avec le projet conduit

Pour la plateforme

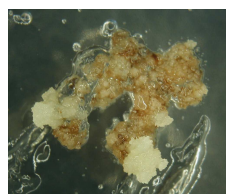
- Introduire l'ADN dans des agrobactéries (étape ③)
- Transformer des cellules embryogènes de vigne (étape ③)
- Régénérer 10 transformants indépendants par construction (étape ④)
- Caractériser chaque transformant avec les amorces reçues
- Fournir une copie sous forme de plantule *in vitro* pour chacun des 10 transformants par construction ainsi que les agrobactéries avec les plasmides introduits
- Garder une copie *in vitro* pour sauvegarde de chacun des transformants pendant une période de 3 mois.
- Fournir en temps réel des informations sur le déroulé des expériences avec une transformation témoin en référence (chiffres, photos, etc... via la boîte mail plateforme)
- Etre à l'écoute des laboratoires partenaires pour des souhaits spécifiques de génotypes, de projets, d'accueil de personnels, d'optimisation...

EXEMPLES D'APPLICATIONS et DEVELOPPEMENTS

Analyse fonctionnelle de promoteur



Création de porte-greffes transgéniques pour une résistance aux virus : utilisation de constructions hairpin



Développements : projet VITAF financé par le DGAP INRA

- méthodes d'expression transitoire.
- transformation stable de la lignée naine à cycle rapide.

Objectifs :
Apporter à la communauté scientifique une lignée de vigne modèle (propriété INRA Colmar) permettant la validation fonctionnelle de gènes exprimés dans les baies en 4 mois au lieu de 14 et une analyse génétique en 5 mois au lieu de 18

